Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 873-886

The Effect of Different levels of Damask Rose Waste (DRW), Walnut Green Skin Waste (WGW) and Cow Manure Biochars on Biochemical, Physiological and functional Characteristics of European Borage (*Borago officinalis* L.)

A. Najarzadeh[1], H. Farahbakhsh[2*], R. Moradi[3], M. Naseralavi[4], M. Naghizadeh[5]

Received: 20-12-2022
Revised: 11-03-2023
Accepted: 29-04-2023
Available Online: 02-05-2023

How to cite this article:
Najarzadeh, A., Farahbakhsh, H., Moradi, R., Naseralavi, M., & Naghizadeh, M. (2023). The effect of different levels of Damask rose, waste (DRW) walnut green skin waste (WGW) and cow manure biochars on biochemical, physiological and functional characteristics of European borage (*Borago officinalis* L.). *Journal of Horticultural Science*, *37*(3), 873-886. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79955.1218

Introduction

Borage (*Borago officinalis* L.) is a valuable annual medicinal herb suitable for cultivation in many countries, including Iran. Borage is considered as a native of both Europe and Asia. Several species around the world fall under the denomination of "borage". The presence of the γ-linolenic acid in the seeds of borage makes borage distinctively important mainly for the nutraceutical and pharmaceutical research. γ-Linolenic acid is an omega -6 polyunsaturated fatty acid which cannot be synthesized in the body and hence falls into the category of essential fatty acids (Evesh *et al.*, 2019).

Chemical fertilizer is an indispensable abiotic factor in agricultural production, especially nitrogen fertilizer. However, in order to improve the yield, people fertilize a lot, which not only wastes resources, but also brings a series of serious problems to the environment, such as greenhouse gas emissions, soil fertility degradation and water resources pollution. Therefore, developing new fertilizers, improving crop nutrient utilization efficiency, replacing chemical fertilizers and reducing environmental pollution is an important direction of agricultural sustainable developme (Zhang *et al* ., 2020).

Biochar is a carbon rich product formed by pyrolysis of agricultural and forestry wastes under limited air availability. It is generally alkaline in nature, with the characteristics of rich carbon content, large specific surface area and strong adsorption. Biochar addition can reduce soil bulk density and increase porosity, pH, water holding capacity and nutrient content. Additionally, the unique physical properties of biochar can also promote the colonization and growth of some specific microorganisms, which may participate in the mineralization of biochar and promote nutrient cycling. Therefore, biochar has been widely used on improving soil quality and increasing crop productivity. Biochar has a positive effect on root structure and nutrient absorption of plant. Several studies have shown biochar can significantly increase the root length, root biomass, root surface area and specific root length. The study also found that biochar significantly increased the number of plant root tips, the most active part of root, and then increased the ability of plants to absorb nutrients from soil (Zhang *et al*, 2020).

Materials and Methods

1, 2 and 4- Ph.D. Student, Professor and Assistant Professor, Department of Genetics and Plant Production, Agricultural Faculty, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: hfarahbakhsh@uk.ac.ir)
3 and 5- Associate Professor and Assistant Professor, Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran, respectively.
https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79955.1218

In order to evaluate the effect of damask rose waste (DRW), walnut green skin waste (WGW) and cow manure biochars on biochemical, physiological and yield characteristics of European borage, an experiment was carried out based on a completely randomized design at the greenhouse conditions in Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman. The experimental treatments contain: without of biochar (control), biochars of cow manure (0.75%, 1.25%, 2.5% and 5% w/w), walnut green skin biochar (WGW) (0.75%, 1.25%, 2.5% and 5% w/w) and damask rose waste biochar (DRW) (0.75, 1.25, 2.5 and 5% w/w). The physicochemical properties of the biochars and soil were analyzed. Five seeds were planted in three-kilogram pots at a depth of 1.5 to 2 cm. The greenhouse was maintained at an average temperature of 25 °C during the day and 20 °C at night, with a relative humidity level of 60%. Upon concluding the experiment, various biochemical, physiological, and functional characteristics of European borage were assessed and measured.

Results and Discussion

The results showed that DRW (60%) and WGW (13%) biochars had the highest and lowest amount of stable organic carbon, respectively. The investigated treatments significantly ($p \leq 0.01$) affected the biochemical, physiological and performance traits of European borage. Application of DRW and manure biochars caused a significant ($p \leq 0.01$) increase in yield and photosynthetic pigments of European borage compared to the control. Applying WGW biochar at the level of 2.5% increased the shoot dry weight of the plant by 119% compared to the control treatment. Application of 1.25% of cow manure biochar also increased the shoot dry weight by 29.7%. WGW biochar applying not only had no positive effect on the growth and yield of the European borage, but also lead the decreasing growth and prevent flower production of borage. The highest CAT activity related to applying 2.5% of DRW biochar and 1.25% of manure biochar. Application of WGW in concentration of 0.75% significantly increased the proline contents. Using biochar improves soil fertility.

Conclusion

In general, applying DRW biochar in concentration of 2.5% and cow manure biochar in concentration of 1.25% were the most suitable treatments.

Keywords: Catalase, Electrical conductivity, Medicinal plant, Proline, Pyrolysis

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۳، پاییز ۱٤۰۲، ص. ۸۸٦-۸۷۳

تأثیر سطوح مختلف بیوچار تفاله گل محمدی، پوست سبز گردو و کود گاوی بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و عملکرد گیاه دارویی گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.)

اسماء نجارزاده[۱]- حسن فرحبخش[۲*]- روح اله مرادی[۳]- مهدی ناصر علوی[٤]- مهدی نقی زاده[٥]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۲/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۰۹

چکیده

در سال‌های اخیر استفاده از بیوچار توجه زیادی را به عنوان یک راهبرد قابل قبول برای افزایش بهره‌وری گیاهان به خود جلب کرده است. در این مطالعه، تاثیر سه نوع بیوچار کود گاوی (۰/۷۵، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ درصد وزنی)، پوست سبز گردو (۰/۷۵، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ درصد وزنی) و تفاله گل محمدی (۰/۷۵، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ درصد وزنی) به همراه عدم کاربرد بیوچار در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار بر خصوصیات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و عملکرد گیاه گاوزبان اروپایی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۱۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیوچار تفاله گل محمدی و پوست سبز گردو به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان کربن آلی پایدار را دارا بودند. تیمارهای مورد بررسی بطور معنی‌داری ($p \leq 0.01$) صفات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و عملکرد گاوزبان اروپایی را تحت تاثیر قرار دادند. استفاده از بیوچار تفاله گل محمدی و کود گاوی موجب افزایش معنی‌دار ($p \leq 0.01$) عملکرد و رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به شاهد شدند. استفاده از بیوچار گل محمدی به میزان ۲/۵ درصد وزنی باعث افزایش ۱۱۹ درصدی وزن اندام هوایی نسبت به تیمار عدم کاربرد بیوچار شد. تیمار ۱/۲۵ درصد وزنی از کود گاوی نیز ۲۹/۷ درصد وزن تر اندام هوایی را افزایش داد. بیوچار گردو نه تنها تاثیر مثبتی بر رشد و عملکرد گیاه نداشت، بلکه باعث کاهش رشد و عدم تولید گل در گاوزبان اروپایی شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۲/۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی (۰/۴۷ واحد بر گرم پروتئین) و ۱/۲۵ درصد بیوچار کود گاوی (۰/۶۴ واحد بر گرم پروتئین) حداکثر بود، میزان پرولین نیز در تیمار۰/۷۵ درصد بیوچار پوست گردو (۱۰/۶ میکرومول بر گرم وزن تر) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بطور کلی، نتایج نشان داد از بین بیوچارهای مورد بررسی، بیوچار تفاله گل محمدی با نسبت ۲/۵ درصد وزنی مناسب ترین تیمار از نظر بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و رشدی گاوزبان اروپایی بود.

واژه‌های کلیدی: پرولین، کاتالاز، گیاه دارویی، هدایت الکتریکی

۱، ۲ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: hfarahbakhsh@uk.ac.ir)
۳ و ۵- به‌ترتیب دانشیار و استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79955.1218

مقدمه

ماده آلی خاک کلیدی‌ترین عامل در باروری و کیفیت خاک، حفاظت محیط زیست، تصفیه آلاینده‌ها و نیز انتقال و ذخیره آب و املاح در خاک می‌باشد. در اقلیم‌های خشک و نیمه خشک که بخش عمده ایران را شامل می‌شود، عدم وجود پوشش گیاهی کافی و مناسب، سبب کاهش بازگشت بقایای گیاهی به خاک و در نتیجه فقر ماده آلی خاک می‌شود. به همین دلیل کشاورزان مدام در تلاشند تا با تأمین نیاز غذایی گیاه به ویژه از طریق مصرف کودهای شیمیایی و دامی و بازگرداندن بقایای آلی به خاک، تولید محصول را تا حد امکان افزایش دهند (Yan *et al.*, 2022).

در سال‌های اخیر از بیوچار (زغال زیستی) به عنوان اصلاح کننده خاک (منبع کربن آلی) و روشی برای ترسیب کربن درخاک‌های کشاورزی استفاده شده است. بیوچار، زغال تهیه شده از زیست توده های گیاهی و ضایعات کشاورزی مانند کاه گندم، ذرت، سبوس برنج و تفاله نیشکر است که طی فرآیند ترموشیمیایی پیرولیز تولید می‌شود، پیرولیز، سوختن کند و آرام مواد آلی در شرایط کمبود اکسیژن یا نبود آن است (Yan *et al.*, 2022). با تبدیل ضایعات کشاورزی و حیوانی به بیوچار در واقع نه تنها انرژی آزاد شده بلکه حجم و وزن مواد زائد و اثرات نامطلوب شیرابه تا حد قابل توجهی کاهش می‌یابد (Uzoma *et al.*, 2011). بیوچار پایداری بالایی داشته و به منظور مدیریت ضایعات، کاهش تغییرات اقلیمی، تولید انرژی و بهبود خصوصیات خاک تولید می‌شود (Lehmann *et al.*, 2015).

خصوصیات منحصر به فرد بیوچار آن را به عنوان گزینه مناسبی برای مصرف در خاک مطرح ساخته است. بیوچار خصوصیات مختلف فیزیکی (ساختمان خاک، جرم مخصوص ظاهری، هدایت هیدرولیکی)، شیمیایی (pH، ظرفیت تبادل کاتیونی، میزان مواد آلی) و زیستی خاک (فعالیت میکروبی، تنوع میکروبی، فعالیت آنزیمی، جمعیت میکروبی) را تحت تاثیر قرار داده و موجب بهبود حاصلخیزی خاک می‌شود (Beheshti *et al.*, 2016). بیوچار می تواند به عنوان یک اصلاح کننده برای بهبود کیفیت خاک استفاده شود. افزودن بیوچار سبب تغییر در برخی ویژگی‌های خاک مانند قابلیت هدایت الکتریکی، pH، مقدار کربن آلی و همچنین قابلیت استفاده برخی عناصر پرمصرف و کم مصرف بویژه پتاسیم می‌گردد (Cely *et al.*, 2015; Najafi *et al.*, 2015). بیوچار به علت سطح ویژه زیاد و تراکم بار سطحی بالا، توانایی خاک برای نگهداری عناصر غذایی و آب قابل استفاده گیاه را افزایش و شستشوی عناصر غذایی و کودها را کاهش می‌دهد (Nigussie *et al.*, 2012).

بیوچار با تامین بخشی از عناصر مورد نیاز گیاه موجب افزایش عملکرد گیاه می‌گردد (Zhang., *et al*, 2020; Masto, 2013). با کاربرد ۶۰ تن در هکتار بیوچار تولید شده از چوب جنگلی در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ درصد افزایش در عملکرد گندم مشاهده شد (Lalarab *et al.*, 2015). اثر سطوح ۰/۴ ، ۰/۸، ۱/۲، ۱/۶ و ۲ کیلوگرم در متر مربع بیوچار تولید شده از فضولات بلدرچین بر عملکرد سویا (*Glycine max* L.) نشان داد بیوچار فضولات بلدرچین باعث افزایش ارتفاع و عملکرد بیولوژیکی گیاه سویا می‌شود و همچنین بیوچار فضولات بلدرچین موجب افزایش عناصر غذایی در گیاه سویا شد (Suppadit *et al.*, 2012). افزودن ۱۰ گرم در یک کیلوگرم بیوچار تولید شده از کود مرغی سبب افزایش رشد گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) شد (Guneset, 2014). افزایش میزان بیوچار باعث رشد بیشتر گیاه تاج خروس (*Amaranthus retroflexus* L.) شد و این گیاه همواره دارای بیشترین میزان صفات رشدی در سطوح دارای بیوچار بود (Habbibi, 2017). کشت گیاه مرزه (*Satureja rechingeri jamzad* L.) تحت بیوچار کود دامی موجب افزایش سطح برگ، افزایش عملکرد و افزایش اسانس گیاه مرزه شد (Beiranvandi *et al.*, 2022). سالانه مقدار زیادی ضایعات کشاورزی تولید می‌شود، ضایعات گیاهان دارویی حاصل از اسانس گیری نیز مقادیر زیادی از ضایعات کشاورزی را شامل می‌شود، این ضایعات می‌تواند منابع زیست‌توده‌ای مهم برای تولید بیوچار باشند (Duyen Thicamnguyen *et al.*, 2022). استفاده از بیوچار ضایعات تقطیر و منابع معدنی کم ارزش باعث افزایش ۸/۶۵ درصدی در بازده وزن خشک گیاه دارویی سنا (*Cassia angustifolia* L.) شد (Ajoy *et al.*, 2022). کشت گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) با استفاده از تیمار بیوچار ضایعات گیاهی مرزه (*Satureja rechingeri jamzad* L.) باعث افزایش ۱۲ درصدی ارتفاع بوته و افزایش تعداد ساقه و میانگره شد (Mumivand *et al.*, 2023).

گاو زبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) گیاهی علفی، یک ساله متعلق به تیره گاوزبان (Boraginales) است. منشاء آن آسیای صغیر، جنوب اروپا و آفریقا گزارش شده است. ساقه این گیاه مستقیم، توخالی و پوشیده از کرک‌های بسیار زبر است. ارتفاع این گیاه بین ۸۰ تا ۱۶۰ سانتی‌متر متغیر است. برگ‌ها نیز همانند ساقه، پوشیده از کرک‌های کم و بیش زبر هستند. برگ‌های پایینی نسبت به برگ‌های بالایی از دمبرگ بلندتری برخوردارند. در طب سنتی بعضی کشورها از برگ‌ها و گل‌های خشک این گیاه برای معالجه یرقان، سرفه، تب، بعضی بیماری‌های پوستی و همچنین معالجه بیماری‌های مربوط به سنگ کلیه استفاده می‌کنند (Omidbeigi, 2013; Evesh *et al.*, 2019).

گاوزبان اروپایی دارای مواد آنتی‌اکسیدانی، کاهش دهنده

کلسترول خون و تنظیم کننده گردش خون است. از روغن دانه این گیاه برای درمان اگزما و تصلب شرائین استفاده می‌شود. از مواد موثره (اسید گاما لینولئیک) آن نیز در صنایع دارویی و صنایع آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. دانه‌های گیاه حاوی ۲۲-۳۳ درصد اسید گاما لینولئیک، ۳۰-۴۰ درصد اسید لینولئیک و ۸-۱۵ درصد اسید پالمتیک هستند. پیکر رویشی محتوی موسیلاژ، ساپونین تانن و عناصر معدنی است (Fernandes *et al*., 2019).

هدف از این پژوهش مطالعه تاثیر سطوح مختلف از بیوچارهای تفاله گل محمدی، پوست سبز گردو و کود گاوی بر برخی از خصوصیات بیوشیمیایی و عملکرد گیاه گاوزبان اروپایی بود.

مواد و روش‌ها

به منظور آماده‌سازی بیوچار، کود گاوی از دامداری‌های شهرستان بردسیر، تفاله گل محمدی از کارخانه گلاب لاله زار بردسیر و پوست سبز گردو از منطقه بیدخوان در شهرستان بردسیر، استان کرمان جمع‌آوری شد. تیمارهای جمع آوری شده خشک شده و بعد از آسیاب شدن در ورقه‌های آلومینیومی بسته‌بندی و به مدت چهار ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد در شرایط بدون اکسیژن تحت فرایند پیرولیز قرار گرفتند (Lehmann and Joseph, 2009) و برخی از ویژگی‌های بیوچار تولید شده اندازه‌گیری شد.

تجزیه بیوچار

بیوچارهای با اندازه کوچکتر از ۲ میلی‌متر با آب مقطر به نسبت ۱:۵ برای ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شدند و سپس ویژگی‌های زیر اندازه‌گیری شد:

اسیدیته و هدایت الکتریکی تیمارها توسط pH متر و EC متر مدل AZ اندازه‌گیری شد (Stella Mary, 2016) (جدول ۱).

عملکرد بیوچار تولید شده از کود گاوی، پوست سبز گردو و تفاله گل محمدی به صورت وزن بیوچار تولید شده در واحد وزن خشک ماده اولیه از طریق معادله (۱) محاسبه شد (Lehmann and Joseph, 2009).

$$Biochar\ Yield = \frac{mb}{m(raw)} \times 100\ m(raw)$$ معادله (۱)

در این معادله، mb نشان دهنده وزن بیوچار و m (raw) نشان دهنده وزن خشک ماده آلی خام (گرم) می‌باشند.

برای اندازه‌گیری چگالی ظاهری، ۵۰ گرم از بیوچار را داخل استوانه مدرج ۱۰۰ میلی‌متری ریخته و به مدت ۱ دقیقه روی دستگاه شیکر قرار داده شد بعد از یک دقیقه حجم آن یادداشت شد. چگالی ظاهری بیوچار ($g.cm^{-3}$) از معادله ۲ محاسبه شد (Stella Mary, 2016).

$$\text{Bulk density} = \frac{\text{Weight of dry material (g)}}{\text{Volume of packed dry materials (ml)}}$$ معادله (۲)

Weight of dry material: وزن بیوچار

Volume of packed dry materials: حجم بیوچار داخل سیلندر

برای اندازه‌گیری محتوای خاکستر بیوچار مطابق روش استاندارد (D ASTM-۲۸۶۶)، ۵ گرم تیمار خشک داخل بوته چینی ریخته و به مدت ۸ ساعت در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد در کوره الکتریکی قرار داده شد. بعد از این زمان نمونه را داخل دسیکاتور در دمای اتاق قرار داده و پس از سرد شدن دوباره وزن شد (Preston *et al*., 2006).

$$ASH\% = \frac{M\ ash\ (g)}{M\ dry\ (g)} \times 100$$ معادله (۳)

M_{ash}: وزن خاکستر (گرم) و M_{dry}: وزن ماده خشک (گرم) است.

پایداری کربن بیوچار در برابر معدنی شدن با استفاده از روش اکسید شدن با دیکرومات مورد بررسی قرار گرفت و کربن ناپایدار از معادله (۴) محاسبه شد (Stella Mary, 2016).

$$\text{Unstable carbon} = \frac{(V0 - V) \times C \times 7/5}{M\ dry}$$ معادله (۴)

Vo(ml): حجم $FeSO_4$ مصرفی برای تیتر شاهد V(ml): حجم $FeSO_4$ مصرفی برای تیتر تیمار بیوچار C: مولاریته محلول استاندارد $FeSO_4$ و M_{dry} وزن خشک بیوچار می‌باشد.

گروه‌های عاملی اسیدی در بیوچارهای مورد مطالعه به روش تیتراسیون (Song and Guo, 2012) اندازه‌گیری شدند. از فنل فتالئین به عنوان معرف استفاده شد. مقدار NaOH و $NaHCO_3$ تیتر شده به‌ترتیب گروه‌های عاملی اسیدی کل و گروه‌های کربوکسیل را نشان می‌دهند. تفاوت بین NaOH و Na_2CO_3 تیتر شده مربوط به گروه‌های فنول و تفاوت بین Na_2CO_3 و $NaHCO_3$ تیتر شده مربوط به گروه‌های لاکتون می‌باشد (Song and Guo, 2012).

خصوصیات فیزیکوشیمیایی انواع مختلف بیوچار

pH، هدایت الکتریکی، میزان خاکستر، عملکرد بیوچار، چگالی ظاهری، کربن آلی، گروه‌های عامل اسیدی، کربوکسیل، فنل و لاکتون در بیوچار تفاله گل محمدی، کود گاوی و پوست سبز گردو در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکو شیمیایی بیوچارهای مورد مطالعه

Table 1- Physicochemical characteristics of studied biochars

نوع بیوچار Biochar type	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC (dS.m^{-1})	خاکستر Ash (%)	عملکرد Yield (%)	چگالی ظاهری Apparent density (g.cm^{-3})	کربن آلی پایدار Carbon Stability (%)	گروه‌های عاملی سطحی اسیدی Functiona group acidic (µmol H^{+}.g^{-1})	گروه‌های کربوکسیل Groups Carboxyl (µmol H^{+}.g^{-1})	گروه‌های فنل Phenol groups (µmol H^{+}.g^{-1})	گروه‌های لاکتون Lactone groups (µmol H^{+}.g^{-1})
گل محمدی Damask rose waste	11.1	13	49	54	0.46	60.35	520	25	45	15
کود دامی Cow manur	10.69	14	45	52	0.44	35.6	450	35	42	16
پوست سبز گردو Walnut shell	9.7	35	33	42	0.32	13	340	13	28	10

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی- شیمیایی خاک و بیوچارهای مورد استفاده

Table 2- Physicochemical characteristics of soil and the used biochars

تیمار Treatment	بافت Texture	نیتروژن N (%)	فسفر P (mg.kg^{-1})	پتاسیم K (mg.kg^{-1})
خاک Soil	لومی شنی Sandy Loam	0.1	12.8	120
بیوچار تفاله گل محمدی Damask rose waste	-	6	49.9	500
بیوچار کود گاوی Cow manur	-	3.5	56.8	310
بیوچار پوست سبز گردو Walnut shell	-	1.3	60	730

آزمایش گلخانه‌ای

به منظور ارزیابی اثر بیوچارهای کود دامی، تفاله گل محمدی و پوست سبز گردو بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و رشدی گیاه گاوزبان اروپایی، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی در گلخانه دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان اجرا شد. متوسط دمای روز گلخانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد و متوسط دمای شب ۲۰ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۶۰ درصد بود.

تیمارهای آزمایش شامل شاهد (عدم استفاده از بیوچار)، بیوچارهای کود دامی، تفاله گل محمدی و پوست سبز گردو هر کدام در غلظت های ۰/۷۵، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ درصد وزنی بودند که به گلدان‌ها اضافه شد (مقادیر ۷/۵ گرم، ۱۲/۵ گرم، ۲۵ گرم و ۵۰ گرم از بیوچارهای ذکر شده به هر کیلوگرم خاک اضافه شد). از آنجائی‌که در این تحقیق تیمار شاهد (عدم استفاده از بیوچار) وجود داشت و درصورت فاکتوریل کردن این تیمار برای کلیه انواع بیوچار تکرار می شد، آزمایش بصورت فاکتوریل اجرا نشد. بذرهای (تهیه شده از شرکت پاکان بذر با ۹۹ درصد جوانه‌زنی) گیاه بوسیله الکل و محلول هیپوکلرید سدیم ۵ درصد ضدعفونی شده و بلافاصله چند مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند. پنج بذر در گلدان‌های سه کیلوگرمی که حاوی تیمارهای مورد مطالعه بودند در عمق ۲ تا ۳ سانتی‌متری کشت شدند. دو ماه بعد از کاشت زمانی که گیاهان در مرحله ۵۰ درصد گلدهی بود صفات رشدی و عملکردی گیاه شامل تعداد گل، تعداد برگ، ارتفاع اندام هوایی (از طوقه تا بالاترین ارتفاع بوته)، طول ریشه (اندام زیرزمینی)، وزن اندام هوایی، وزن ریشه و همچنین ارزیابی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه به شرح ذیل صورت گرفت.

مقدار پروتئین کل از روش برادفورد (Bradford, 1976) در طول موج ۵۹۵ نانومتر، مقدار پرولین از روش بیتس در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب

H_2O_2 (کاهش مقدار H_2O_2) در ۲۴۰ نانومتر انجام شد. فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی برحسب پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره به دست آمده از روش برادفورد در یک دقیقه محاسبه گردید. یک واحد آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که ۱ میلی مول H_2O_2 را در یک دقیقه تجزیه می‌کند (Bradford *et al.*, 2009).

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از گایاکول و اندازه‌گیری تغییرات جذب اکسیداسیون گایاکول در سه دقیقه با طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل موجود در ۲۰ میکرولیتر عصاره گزارش شد (Bradford *et al.*, 2009).

ارزیابی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر محاسبه شد. یک واحد آنزیمی آسکوربات پراکسیداز مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مول آسکوربات را در یک دقیقه اکسید می‌کند فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۵۰ میکرولیتر عصاره گزارش شد (Asada, 2006).

برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیچنتایر استفاده شد. ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاه در هاون چینی حاوی ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شد و پس از صاف کردن، جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

$$Chl.a = (12.25A_{663.2} - 2.79A_{646.8}) \quad \text{(۵) معادله}$$

$$Chl.b = (21.21A_{646.8} - 5.1\ A_{663.2}) \quad \text{(۶) معادله}$$

$$Chl.T = Chl.a + Chl.b \quad \text{(۷) معادله}$$

$$Car = [(1000A_{470}-1.8\,Chl.a-85.02\,Chl.b)/198] \quad \text{(۸) معادله}$$

در این فرمول Chl.a، Chl.b، Chl.T و Car به‌ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن و گزانتوفیل) می‌باشند (Lichtenthaler, 1987). غلظت بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاهی تعیین گردید. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه های فتوسنتزی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

داده‌های حاصل از این آزمایش توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها بر حسب آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

تاثیر انواع مختلف بیوچار بر خصوصیات مورفولوژیکی و عملکردی گاوزبان اروپایی

نتایج این مطالعه نشان داد گیاه گاوزبان اروپایی در تیمار ۵ درصد بیوچار پوست سبز گردو قادر به جوانه‌زنی نبود.

تعداد گل: تعداد گل به طور معنی‌داری ($p \leq 0.01$) تحت تاثیر تیمارهای مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین تعداد گل (۷۷ گل در بوته) در تیمار ۲/۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی بدست آمد، که نسبت به تیمار بدون بیوچار (۳۱ گل در بوته) تعداد گل را ۱۴۸ درصد افزایش داد (جدول ۳). کمترین تعداد گل نیز مربوط به ۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی بود (۱۷ گل در بوته)، این صفت ۴۵ درصد نسبت به تیمار بدون بیوچار کاهش داشت (جدول ۴). در تیمار بیوچار کود گاوی، بیشترین تعداد گل (۴۲ گل در بوته) مربوط به تیمار ۱/۲۵ درصد کود گاوی بود که ۳۵/۴ درصد نسبت به تیمار بدون بیوچار افزایش داشت (جدول ۴).

گیاه گاوزبان اروپایی در هیچ کدام از سطوح مورد استفاده از بیوچار پوست سبز گردو، وارد مرحله گلدهی نشد.

تعداد برگ: تیمارهای مورد مطالعه اثر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر تعداد برگ داشتند (جدول ۳). بیشترین تعداد برگ در تیمار ۲/۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی (۴۰ برگ در بوته) مشاهده شد که ۶۶ درصد بیشتر از تیمار بدون بیوچار (۲۴ برگ در بوته) بود (جدول ۴). تیمارهای ۰/۷۵ و ۱/۲۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی اختلاف معنی‌داری از نظر تعداد برگ با تیمار بدون بیوچار نداشتند (جدول ۴). در بیوچار کود گاوی، بیشترین تعداد برگ (۲۹ برگ در بوته) مربوط به تیمار ۱/۲۵ درصد بیوچار کود گاوی بود که ۲۰/۸ درصد نسبت به تیمار بدون بیوچار افزایش داشت. در بین سطوح مختلف تیمار بیوچار کود گاوی کمترین تعداد برگ (۱۷ برگ در بوته) مربوط به تیمار ۵ درصد بیوچار کود گاوی بود که ۲۹/۱ درصد نسبت به تیمار بدون بیوچار کاهش داشت (جدول ۴). بیشترین برگ در تیمار بیوچار پوست سبز گردو مربوط به تیمار ۰/۷۵ درصد بیوچار بود که تفاوت معنی داری با تیمار بدون بیوچار نداشت (جدول ۴).

ارتفاع اندام هوایی: این شاخص در سطح احتمال ۱ درصد تحت تاثیر تیمارهای مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳). بررسی این شاخص نشان داد بیشترین ارتفاع اندام هوایی (۴۱ سانتی‌متر) مربوط به تیمار ۲/۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی است که ۳۶/۶ درصد نسبت به تیمار بدون بیوچار (۳۰ سانتی‌متر) افزایش داشت. در این تیمار، کمترین طول شاخه (۲۷ سانتی‌متر) مربوط به سطح ۰/۷۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی بود که تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون بیوچار نداشت (جدول۴). در تیمار بیوچار کود گاوی، بیشترین ارتفاع اندام هوایی مربوط به سطح ۱/۲۵ درصد بود که اختلاف معنی داری با تیمار بدون بیوچار نداشت. کمترین ارتفاع اندام هوایی نیز (۸ سانتی‌متر) در تیمار ۵ درصد بیوچار کود گاوی مشاهده شد که ۷۳/۳ درصد نسبت به تیمار بدون بیوچار کاهش نشان داد (جدول ۴). بیشترین ارتفاع اندام هوایی در تیمار پوست سبز گردو، مربوط به سطح ۰/۷۵ درصد بیوچار (۳۸ سانتی‌متر) بود که ۲۶/۶ درصد بیش از تیمار بدون بیوچار بود (جدول ۴).

طول ریشه: تیمارهای مورد بررسی تـاثیر معنـی‌داری بـر طـول ریشه داشتند ($p \leq 0.01$) (جدول ۳). در بین تیمارهـای مـورد بررسـی تنها بیوچار تفاله گل محمدی طول ریشـه را نسـبت بـه تیمـار بـدون بیوچار بهبود بخشید (جدول ۴). بیشـترین طـول ریشـه در تیمـار ۲/۵ درصد بیوچار تفاله گل محمـدی مشـاهده شـد (۳۳ سـانتی‌متـر) کـه افزایش ۱۱۲/۹درصدی نسبت به تیمار بدون بیوچار (۱۵/۵ سانتی‌متر) داشت، در این تیمار کمترین طول ریشه (۱۰ سـانتی‌متـر) مربـوط بـه تیمار ۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی با ۳۵/۴ درصد کاهش نسبت به تیمار بدون بیوچار بود (جدول ۴). در تیمار بیوچار کـود گـاوی، بیشترین طول ریشه مربوط بـه تیمـار ۱/۲۵ درصـد (۱۶ سـانتی‌متـر) بیوچار کود گاوی بود که اختلاف معنـی‌داری بـا تیمـار بـدون بیوچـار نداشت (جدول ۴). بیشـترین طـول ریشـه (۱۴ سـانتی‌متـر) در تیمـار پوست سبز گردو، مربوط به تیمار ۰/۷۵ درصد بیوچار بود که اخـتلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (جدول ۴).

وزن‌تر اندام هوایی: اثر تیمارهای مورد مطالعه بر وزن‌تـر انـدام هوایی در سطح احتمال ۱ درصد معنـی‌دار بـود (جـدول ۳). بیشـترین وزن‌تر اندام هوایی در تیمار ۲/۵ درصـد بیوچـار تفالـه گـل محمـدی (۳۰/۹ گرم) حاصل شد که ۱/ ۱۱۹ درصد نسبت به تیمار بدون بیوچار (۱۴/۱ گرم) افزایش داشت. کمترین وزن‌تر اندام هوایی در تیمار ۰/۷۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی (۱۰/۲۵ گرم) بود کـه ۲۷/۳۰ درصـد کمتر از تیمار بدون بیوچار بود. بیشترین وزن‌تر انـدام هـوایی (۱۸/۲۹ گرم) در تیمار بیوچار کود گاوی مربوط به تیمـار ۱/۲۵ درصـد بیوچـار کود گاوی با ۲۹/۷ درصد افزایش نسبت به تیمار بدون بیوچـار بـود و کمترین وزن‌تر اندام هـوایی (۷/۵۷ گـرم) نیـز در تیمـار ۰/۷۵درصـد بیوچار کود گاوی مشاهده شد که ۴۶/۳ درصـد کمتـر از تیمـار بـدون بیوچار بود. در تیمار بیوچار پوست سبز گـردو، بیشـترین وزن‌تـر انـدام هوایی در تیمار ۰/۷۵ درصد بیوچار (۱۲/۸۶ گرم) مشاهده شد که ۸/۷ درصد کمتر از تیمار بدون بیوچار بود (جدول ۴).

وزن‌تر ریشه: وزن‌تر ریشه بطور معنـی‌داری ($p \leq 0.01$) تحـت تاثیر تیمارهای مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۳). تیمـار ۲/۵ درصـد بیوچار تفاله گل محمدی دارای بیشترین وزن‌تـر ریشـه (۱۲/۴۳گـرم) بود و ۲۰۱/۶ درصد نسبت به تیمار بدون بیوچار (۴/۱۲ گرم) افـزایش داشت. در تیمار بیوچار تفاله گل محمدی کمترین وزن‌تر ریشه (۱/۶۷) در سطح ۰/۷۵ درصد بیوچار با ۵۹/۴ درصد کاهش نسـبت بـه تیمـار بدون بیوچار مشاهده شد (جدول ۴). بیشترین وزن‌تـر ریشـه در تیمـار بیوچار کود گاوی (۸/۲۹) با کاربرد ۱/۲۵ درصد بیوچار حاصل شد کـه ۱۰۱/۲ درصد نسبت به تیمار بدون بیوچار افـزایش داشـت. در تیمـار بیوچار کود گاوی کمترین وزن‌تـر ریشـه (۱/۵۸ گـرم) در سـطح ۲/۵ درصد مشاهده شد که ۶۱/۶ درصد کمتر از تیمار بدون بیوچار بـود. در تیمار بیوچار پوست سبز گردو، بیشترین وزن‌تر ریشـه (۴/۲۵ گـرم) در سطح ۰/۷۵ درصد بیوچار مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری بـا تیمـار بدون بیوچار نداشت (جدول ۴).

تأثیر انواع مختلف بیوچـار بـر خصوصـیات بیوشـیمیایی گاوزبان اروپایی

آنزیم‌های آنتی اکسیدانی: تیمارهای مورد بررسی به‌طور معنـی داری ($p \leq 0.01$) فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تحت تـاثیر قـرار دادند (جدول ۵). در بـین تیمارهـای مـورد بررسـی بیشـترین میـزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۶۴ واحد بر گرم پـروتئین) مربـوط بـه تیمـار ۱/۲۵ درصد بیوچار کود گاوی بود، بعد از آن تیمار ۲/۵ درصد بیوچـار تفاله گل محمدی (۰/۴۷ واحد بر گرم پروتئین) و ۰/۷۵ درصد بیوچـار پوست سبز گردو (۰/۲۹ واحد بر گرم پروتئین) بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را داشتند (جدول ۶). در بـین تیمارهـای مـورد مطالعـه، کمترین میزان آنزیم در تیمار ۰/۷۵ درصد کود گاوی (۰/۱۲۳ واحد بر گرم پروتئین) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار بدون بیوچار نداشت.

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی ویژگی‌های عملکردی گیاه گاو زبان اروپایی تحت تاثیر بیوچارهای مختلف

Table 3- ANOVA (Mean square) for some morphological traits of Borage as affected by different types of biochar

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	تعداد گل Flower number	تعداد برگ Leaf number	ارتفاع اندام هوایی Arial shoot length	طول ریشه Root length	وزن تر اندام هوایی Arial fresh weight	وزن تر ریشه Root fresh weigh
تیمار Treatment	12	1823.0**	336.4**	611.7**	223.5**	278.9**	36.63**
خطا Error	26	5.69	0.711	5.93	4.58	1.09	0.039
ضریب تغییرات C.V. (%)	–	11.93	4.40	12.36	10.38	9.18	6.49

*، ** و ns: به‌ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد و عدم معنی‌داری

ns = Non-significant. * and **= Significant at 5% and 1% of probability levels.

جدول ٤- برخی ویژگی‌های گیاه گاوزبان اروپایی تحت تاثیر تیمارهای مختلف بیوچار

Table 4- Some characteristics of the *Borago officinalis* plant as affected by different types of biochar

تیمار Treatment	تعداد گل Flower number	تعداد برگ Leaf number	ارتفاع اندام هوایی Arial length (cm)	طول ریشه Root length (cm)	وزن تر اندام هوایی Arial fresh weigh (g)	وزن تر ریشه Root fresh weigh (g)
تیمار بدون بیوچار Control	31c	24c	30cd	15.5c	14.1b	4.12c
بیوچار تفاله گل محمدی0.75% Damask rose waste 0.75%	35c	26c	27ed	13d	10.25c	1.67f
بیوچار تفاله گل محمدی1.25% Damask rose waste 1.25%	60a	24c	37ab	23b	30a	9b
بیوچار تفاله گل محمدی2.5% Damask rose waste 2.5%	77a	40a	41a	33a	30.9a	12.43a
بیوچار تفاله گل محمدی5% Damask rose waste 5%	17d	32b	30cd	10e	14.8bc	1.78f
بیوچار کود گاوی0.75% Cow manure 0.75%	32c	24c	28d	5gh	7.57d	3.63d
بیوچارکودگاوی1.25% Cow manure 1.25%	42b	29b	33cb	16c	18.29b	8.29b
بیوچار کود گاوی 2.5% Cow manure 2.5%	20d	18d	24e	10e	10.48c	1.58f
بیوچار کود گاوی 5% Cow manure 5%	0g	17d	8f	15cd	7.63d	2.42e
بیوچار پوست سبز گردو0.75% Walnut shell 0.75%	0g	25c	38ab	14cd	12.86c	4.25c
بیوچار پوست سبز گردو1.25% Walnut shell 1.25%	0g	12f	8f	8ee	3.25e	0.83g
بیوچار پوست سبز گردو2.5% Walnut shell 2.5%	0g	11f	4fg	7gf	3.23e	0.53g
بیوچار پوست سبز گردو5% Walnut shell 5%	0g	0g	0h	0i	0f	0i

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن نمی‌باشد.

Column means with the same letter are not significantly different by Duncan’s multiple range test ($p\leq 0.05$)

بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمارهای ۰/۷۵ درصد بیوچار پوست سبز گردو (۲/۸۵ واحد بر گرم پروتئین) و ۱/۲۵ درصد بیوچار پوست سبز گردو (۲/۵ واحد بر گرم پروتئین) بود. کمترین میزان فعالیت این آنزیم (۱/۱۷واحد بر گرم پروتئین) نیز مربوط به تیمار ۲/۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی بود.

بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پرکسیداز (۰/۴۵۲ واحد بر گرم پروتئین) در تیمار ۰/۷۵درصد بیوچار تفاله گل محمدی مشاهده شد. تیمار ۰/۷۵ درصد بیوچار پوست سبز گردو (۰/۴۳۲ واحد بر گرم پروتئین) نیز بعد از آن بیشترین غلظت آنزیم را داشتند. کمترین میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز (۰/۱۵۴ واحد بر گرم پروتئین) مربوط به تیمار ۲/۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی بود (جدول ۶).

پروتئین: تاثیر تیمارهای مورد بررسی بر میزان پروتئین برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). بیشترین میزان پروتئین در تیمار ۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی (۶۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) حاصل شد (جدول ۶). تیمارهای ۱/۲۵ درصد بیوچار کود گاوی و ۰/۷۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی (۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در رتبه‌های بعدی از نظر میزان پروتئین قرار داشتند (جدول ۶). کمترین میزان پروتئین مربوط به تیمار ۱/۲۵ درصد و ۲/۵ درصد بیوچار پوست سبز گردو (۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود.

پرولین: پرولین به طور معنی‌داری ($p\leq 0.01$) تحت تاثیر تیمارهای مورد مطالعه بود (جدول ۵). در بین تیمارهای مورد بررسی تیمار ۰/۷۵ درصد بیوچار پوست سبز گردو بیشترین میزان پرولین

(۱۰/۶میکرومول بر گرم وزن تر) را داشت، بعد از آن تیمار ۵ درصد کود گاوی بیشترین میزان (۹/۳ میکرومول بر گرم وزن تر) پرولین را دارا بود (جدول ۶). کمترین میزان پرولین (۱/۰۲ میکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار ۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی بود که تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون بیوچار نداشت.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج نشان داد تیمارهای مورد بررسی تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی داشتند (جدول ۵).

در تیمار بیوچار تفاله گل محمدی، بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل مربوط به تیمار استفاده از ۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی به‌ترتیب با ۱۷/۲، ۸/۳۲ و ۲۵/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. بیشترین میزان کاروتنوئید در تیمار بیوچار گل محمدی ۰/۷۵ درصد به میزان ۲/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر حاصل شد (جدول ۳). در تیمار بیوچار کود گاوی، بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b وکلروفیل کل در تیمار ۱/۲۵ درصد بیوچار و به میزان ۱۰/۷۱، ۴/۵۶ و ۱۵/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و بیشترین میزان کاروتنوئید در سطح ۵ درصد آن و به میزان ۶/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در تیمار ۰/۷۵ درصد بیوچار پوست سبز گردو به میزان ۵/۱۴، ۲/۹۶ و ۸/۱ بود. در این تیمار بیشترین میزان کاروتنوئید نیز در تیمار ۰/۷۵ درصد بیوچار (۰/۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) حاصل شد (جدول ۶).

بحث

نتایج نشان داد کاربرد تمام بیوچارهای مورد استفاده باعث افزایش اسیدیته خاک می‌شود. یکی از مهمترین دلایل قلیایی شدن بیوچار کاهش مقدار گروه‌های عامل اسیدی با افزایش دما است (Chen *et al*., 2016). در دماهای بالاتر از ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد کربن موجود در مواد آلی تبدیل به خاکستر شده و نمک‌های قلیایی از ساختار آلی آنها جدا می‌شود که باعث افزایش pH می‌گردد. بنابراین در کاربرد بیوچار به عنوان ماده آلی اصلاح کننده خاک باید در نظر داشت اگر خاک زراعی منطقه دارای ماهیت اسیدی باشد استفاده از بیوچاری که درpH بالاتر می‌باشد برای اصلاح اسیدیته خاک می‌تواند موثر واقع شود (Yan *et al*., 2022). بیوچار همچنین چگالی کمتری نسبت به خاک مزرعه (۱/۴ گرم بر سانتی‌متر مکعب) دارد، بنابراین استفاده از بیوچار جهت اصلاح خاک از این جهت نیز می‌تواند مفید باشد (Hwang *et al*., 2007).

نتایج نشان داد استفاده از بیوچار پوست سبز گردو موجب کاهش عملکرد گاوزبان اروپایی می‌شود (جدول ۴). بیوچار پوست سبز گردو بیشترین میزان EC (۳۵ دسی‌زیمنس بر متر) را در بین بیوچارهای مورد بررسی داشت، افزایش در هدایت الکتریکی بیوچار می‌تواند ناشی از، از دست دادن مواد فرار و افزایش غلظت عناصر در خاکستر باشد (Song and Guo, 2012).

با توجه به حساسیت گاوزبان اروپایی به شوری (Makizade *et al*., 2008; Vaccari *et al*., 2011)، افزایش EC می‌تواند یکی از دلایل کاهش عملکرد در تیمار بیوچار پوست سبز گردو باشد. از طرف دیگر، گیاه گردو با داشتن ماده ژوگلان با فرمول شیمیایی ۵-هیدروکسی ۱و۴ نفتاکوئینون اثری بازدارنده بر رشد دارد، این ماده با کاهش فتوسنتز وتنفس مانع از رشد گیاه رقیب می‌شود (Rohi and Saiedi., 2010)، که ممکن است این موضوع نیز باعث اثرات منفی بیوچار پوست گردو بر رشد و عملکرد گاوزبان اروپایی شده باشد. در زمینه استفاده از بیوچار پوست سبز گردو تحقیقات بیشتری مورد نیاز است.

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه گاو زبان اروپایی تحت تاثیر انواع مختلف بیوچار
Table 5- ANOVA (Mean square) for some morphological traits of Borage as affected by different types of biochar

منابع تغییر s.o.v	درجه آزادی df	کاتالاز CAT	آسکوربات پراکسیداز APX	گایاکول پراکسیداز GP	پروتئین Protein	پرولین Prolin	کلروفیلa Chlorophyll a	کلروفیلb Chlorophyll	کلروفیل کل Total Chlorophy	کاروتنوئید Carotenoid
تیمار Treatment	11	0.0675**	0.909**	0.0372**	898.06**	35.0084**	50.019**	1.860**	107/084**	0.669
خطا Error	24	0.000609	0.015	0.00044	4.69	0.199	0.55	0.119	1.248	0.057
ضریب تغییرات C.V. (%)	--	9.133	6.754	5.944	6.55	10.34	8.63	10.72	9.45	6.45

*، ** و ns: به ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد و عدم معنی‌داری

ns = Non-significant. * and **= Significant at 5% and 1% of probability levels

جدول ٦- برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه گاوزبان اروپایی تحت تاثیر تیمارهای مختلف بیوچار

Table 6- Some biochemical characteristics of European borage as affected by different biochar treatments

تیمار Treatment	کاتالاز CAT	آسکوربات پراکسیداز APX	گایاکل پراکسیداز GP	پروتئین Protein (mg.g-1FW)	پرولین Proline (µmol.g-1FW)	کلروفیلa Chlorophyll a	کلروفیل Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid
	(U.mg-1prot)					(mg.g-1FW)			
Control	**0.135ch**	**1.53de**	**0.563a**	**30e**	**1.2g**	**6.35fe**	**2.01d**	**8.36ef**	**3.54d**
Damask rose waste0.75% بیوچار تفاله گل محمدی0.75%	0.198ef	1.88c	0.452b	42c	1.2g	8.32d	2.68c	11d	2.77e
Damask rose waste 1.25% بیوچار تفاله گل محمدی1.25%	0.189ef	1.63d	0.364d	36d	1.7g	10.32c	3.21c	13.53c	2.2f
Damask rose waste 2.5% بیوچار تفاله گل محمدی2.5%	0.47b	1.17g	0.154g	50b	1.2g	14.43b	5.014b	19.44b	2.52ef
Damask rose waste 5% بیوچار تفاله گل محمدی5%	0.218ed	1.47fde	0.302e	69a	1.02g	17.2a	8.32a	25.5a	2.2f
Cow manure 0.75% بیوچار کود گاوی0.75%	0.123h	1.235fge	0.432bc	26f	3.2f	7.32de	3.01c	10.33de	3.2d
Cow manure 1.25% بیوچار کود گاوی 1.25%	0.6477a	1.25fg	0.296e	42c	3.6f	10.7c	4.56b	15.27c	2.3f
Cow manure 2.5% بیوچار کود گاوی 2.5%	0.172gf	2.02c	0.365d	35c	7.8c	8.32d	2.62c	10.94d	4.2c
Cow manure 5% بیوچار کود گاوی 5%	0.288c	2.29b	0.410c	33d	9.3b	7.6de	1.86de	9.46fde	6.11a
Walnut shell 0.75% بیوچار پوست سبز گردو0.75%	0.290c	2.85a	0.432bc	18g	10.6a	5.14gf	2.96c	8.1f	6.3a
Walnut shell 1.25% بیوچار پوست سبز گردو1.25%	0.256cd	2.50b	0.260f	8h	6d	4.21h	1.36f	2.57g	5.3b
Walnut shell 2.5% بیوچار پوست سبز گردو2.5%	0.256cd	2.42b	0.24f	8h	5e	3.22h	1g	4.22g	4c

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی‌باشد.

Column means with the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$)

بیوچار به جز بخش کربنی پایدار حاوی مقدار زیادی خاکستر می باشد که حاوی نمک های معدنی است که در کوتاه مدت می‌تواند به تغذیه گیاه کمک کند (Elesti and Garakhlou, 2014). خاکستر موجود در بیوچار تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرد که از جمله این موارد می‌توان نوع مواد اولیه و دمای گرماکافت را نام برد (Khadem *et al.*, 2017). تفاله گل محمدی بیشترین میزان

خاکستر را در بین بیوچارهای مورد بررسی و بیشترین تاثیر مثبت بر عملکرد گیاه را داشت.

کود گاوی بیشترین میزان کربن آلی پایدار را از میان بیوچارهای مورد بررسی داشت. با توجه به اینکه پایداری کربن بیوچار در مقابل معدنی شدن نسبت به کودهای حیوانی و بقایای گیاهی بسیار بالاتر می‌باشد، لذا استفاده از بیوچار برای ترسیب کربن خاک می‌تواند گزینه مناسبی باشد (Fang *et al*., 2014).

استفاده از بیوچار تفاله گل محمدی در سطح ۲/۵ درصد وزنی و بیوچار کود گاوی در سطح ۱/۲۵ وزنی به خاک تاثیر مثبت و معنی داری بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد گاوزبان اروپایی داشت. تحقیقات زیادی تاثیر مثبت بیوچار بر رشد و عملکرد گیاهان تایید نموده‌اند (Ajoy *et al*., 2022; Duyen *et al*., 2022; Mumivanned *et al*., 2023).

کاتالاز یکی از مهمترین آنزیم‌های سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در گیاه می‌باشد که از دسته پروتئین‌های آهن‌دار محسوب می‌شود و هنگامی در سلول‌های گیاهی و جانوری وارد عمل می‌شود که مقدار ماده پراکسید هیدروژن در محیط زیاد باشد (Asada, 2006). نتایج تحقیق نشان داد، بیشترین فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز در تیمار ۲/۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی، ۱/۲۵ درصد بیوچار کود گاوی و ۰/۷۵ درصد بیوچار پوست سبز گردو بود و بعد از آن میزان فعالیت آنزیم کاهش پیدا کرد. معمولا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاتالاز در شرایطی که گیاه تحت تنش می‌باشد افزایش می یابند (Asada, 2006)، ولی در این تحقیق میزان آنزیم کاتالاز در شرایطی که گیاه رشد و عملکرد مناسب‌تری داشته افزایش یافته و در شرایط کاهش عملکرد کاهش نشان داده است. بنظر می‌رسد از آنجائیکه آنزیم کاتالاز از آمینو اسید تشکیل شده است (Ajoy *et al*., 2022)، تایید شده است که در برخی موارد و شرایط تنش‌زا، عامل تنش که در این آزمایش مواد آللوپاتیک می‌باشد منجر به تخریب آمینو اسیدها و در نتیجه کاهش میزان فعالیت این آنزیم شده است (Rouhi *et al*., 2018).

آسکوربات پراکسیداز نقش حیاتی در مکانیسم‌های دفاعی گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو دارد. این آنزیم، پراکسید هیدروژن را در کلروپلاست، سیتوسول، میتوکندری و پراکسیزوم سلول‌های گیاهی از بین می‌برد (Asada, 2006). در بین آنزیم‌های مورد مطالعه آسکوربات پراکسیداز بیشترین فعالیت را داشت. بیشترین غلظت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مربوط به تیمار ۷۵ درصد بیوچار پوست سبز گردو و کمترین غلظت مربوط به تیمار ۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی بود.

آنزیم گایاکول پراکسیداز در سیتوسول فعالیت داشته و ازگلوتاتیون به عنوان کوفاکتور خود استفاده می‌کند. این آنزیم پراکسید هیدروژن را تجزیه و به آب تبدیل می‌کند. افزایش فعالیت این آنزیم به همراه سایر مکانیسم‌های دفاعی در سیتوسول به حفظ پایداری در این بخش کمک شایانی می‌نماید (Esfandyari *et al*., 2009). غلظت این آنزیم تغییر قابل توجهی بین تیمارهای مختلف نداشت.

پرولین اثر مستقیمی بر ثبات ماکرومولکول‌ها و لایه‌های هیدراسیون آنها دارد و به علت خواص آنتی‌اکسیدانی، عمل حفاظتی غیرمستقیمی را نیز از خود بروز می‌دهد. نقش آنتی‌اکسیدانی پرولین در توانایی آن برای غیر فعال کردن رادیکال‌های هیدروکسیل و سایر ترکیبات دارای فعالیت بالا که تحت شرایط تنش تولید شده و در انتقال الکترون در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها اختلال ایجاد می کند، تظاهر می‌یابد و از طریق پروتئین، غشاها را در برابر آسیب محافظت می‌نماید (Asada , 2016). افزایش و تجمع پرولین در برگ‌های تحت تنش به علت افزایش سنتز و کاهش اکسیداسیون است. پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی به عنوان محافظ در برابر تنش نیز عمل می‌کند و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی ماکرومولکول‌ها در شرایط تنش عمل می‌کند (Kok *et al*., 2010). بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمار ۰/۷۵ درصد بیوچار پوست سبز گردو بود. از آنجائی‌که میزان پرولین در گیاه معمولا در شرایط تنش های محیطی افزایش می‌یابد، بنظر می‌رسد کاهش عملکرد گیاه در تیمار بیوچار پوست سبز گردو ناشی از قرار گرفتن گیاه در معرض تنش باشد (جدول ۶).

رنگیزه های فتوسنتزی با استفاده از بیوچار تفاله گل محمدی و کود گاوی به طور معنی‌داری افزایش یافتند. این موضوع می‌تواند نشان دهنده نقش مثبت این دو بیوچار در تغذیه گیاه باشند. مطالعات متعددی تاثیر مثبت بیوچار را بر بهبود فتوسنتز و افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داده‌اند (Van Zwieten *et al*., 2010; Xu *et al*., 2015). افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a و b در گیاهان تحت شرایط استفاده از بیوچار می‌تواند به دلیل گسترش بیشتر سطح برگ و دوام آن باشد، که با ایجاد منبع فیزیولوژیک کارامد به باعث افزایش فتوسنتز و افزایش عملکرد می‌شود (Kok *et al*., 2010; Jabborova *et al*., 2021).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که اضافه کردن بیوچار تفاله گل محمدی در سطح ۲/۵ درصد وزنی و کود گاوی در سطح ۱/۲۵ درصد وزنی به خاک تاثیر مثبت و معنی‌داری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و عملکرد گاوزبان اروپایی داشت (جدول ۳). بیوچار تفاله گل محمدی به طور معنی‌داری بیش از سایر بیوچارهای مورد استفاده موجب افزایش عملکرد گیاه شد (جدول ۴). استفاده از بیوچار موجب می‌شود که خصوصیات شیمیایی خاک مانند گروه‌های عاملی، ظرفیت تبادل کاتیونی و دسترسی گیاه به عناصر غذایی افزایش یافته و موجب

بهبود حاصلخیزی خاک و نهایتا افزایش رشد و عملکرد می‌گردد.

منابع

1. Ajoy, S., Basak, B., & Atanu, B. (2022). In-vitro antioxidant evaluation and production of biochar from distillation waste biomass of *Mentha arvensis*. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 31*, 1-12. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100428
2. Asada, K. (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, *141*, 391–396. https://doi.org/10.1104/pp.106.082040
3. Beheshti, M., Alikhani, H., Motesharezadeh, B., & Mohammadi, L. (2016). Quality variations of cow manure biochar generated at different pyrolysis temperatures. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, *47*, 259-267. (In Persian). https://doi.org/10.22059/IJSWR.2016.58332
4. Beiranvandi, M., Akbarib, N., Ahmadi, A., Mumivand, H., & Nazarian, F. (2022). Biochar and super absorbent polymer improved growth, yield, and phytochemical characteristics of *Satureja rechingeri*. Jamzad in water-deficiency conditions. *Industrial Crops & Products*, 183, 1-9. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114959
5. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*, 248-254. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999
6. Cely, P., Gasco, J., Paz-Ferreiro, p., & Mendez, A. (2015). Agronomic properties of biochars from different manure wastes. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, *111*, 173–182. https://doi.org/10.1016/J.JAAP.2014.11.014
7. Chen, Y., Xie, T., Liang, Q., Liu, M., Zhao, M., Wang, M., & Wang, G. (2016). Effectiveness of lime and peat applications on cadmium availability in paddy soil under various moisture regimes. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*, 7757-7766. https://doi.org/10.1016/j.jaap.2014.11.014
8. Duyen, N., Hanh, T.N., Thuong Thi, N., Thi Thanh, T.N., Rock Keey, L., Long Giang, B., Trinh Duy, N., Dai-Viet, N.V., & Thuan, V.T. (2021). Engineering conversion of Asteraceae plants into biochars for exploring potential applications: A review. *Science of The Total Environment*, *797*, 1-9. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149195
9. Elesti, A., & Javaid Garakhlou, J. (2014). A review on the effect of biochar on the absorption and leaching of herbicides. *Weed Research Journal*, *7*, 1-20. (In Persian)
10. Esfandyari, A., Mahbob, S., & Shekari, F. (2009). *Principles of plant physiology*. Umid Publications Tabriz. 204 pp. (In Persian)
11. Evesh, T., Sweta, B., Pooja, P., & Archana, N. (2019). Chapter 37 . *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*. Academic Press. 165-170. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00023-0
12. Fang, Y., Singh, B., Singh, B.P., & Krull, E. (2014). Biochar carbon stability in four contrasting soils. *European Journal of Soil Sience*, *65*, 60-71. https://doi.org/10.1111/ejss.12094
13. Fernandes, J., Pereira, A., Saraiva, E., & Ramalhosa, S. (2019). Casal, Phytochemical characterization of *Borago officinalis* L. and *Centaurea cyanus* L. during flower development. *Food Research International*, *123*, 771-778. https://doi 10.1016/j.foodres.2019.05.014
14. Gunes, A., Inal, M., Taskin, O., Sahin, E., Kaya, C., & Atakol, A. (2014). Effect of phosphorus-enriched biochar and poultry manure on growth and mineral composition of lettuce (*Lactuca sativa* L) grown in alkaline soil. *Soil Use and Management*, *30*, 182–188. https://doi.org/10.1111/sum.12114
15. Jabborova, D., Annapurna, K., Al-Sadi, A., Ali Alharbi, A., & Datta, R. (2021). Biochar and Arbuscular mycorrhizal fungi mediated enhanced drought tolerance in Okra (*Abelmoschus esculentus*) plant growth root morphological traits and physiological properties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *28*, 5490–5499. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.016
16. Habibi, H., Motsharazadeh, B., & Alikhani, H. (2017). Effect of biochar and biological treatments on nutrient elements content (P, K, Ca, Mg, Fe and Mn) of Amaranthus in oil polluted soil. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, *48*, 384-369. (In Persian). https://doi.org/10.22059/IJSWR.2017.62645
17. Kok, E., Slek, I., & Ustum, A. (2010). Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annum* L.), varieties. *Gazi University Journal of Science*, *23*, 1-6.
18. Inal, A., Gunes, O., Sahin, M., Taskin, B., & Kaya, C. (2015). Impacts of biochar and processed poultry manure, applied to a calcareous soil, on the growth of bean and maize. *Soil Use and Management*, *31*, 106–113.
19. Lal Arab, M., Astarai, A., & Lekzian, A. (2014). *The effect of biochar on soybean plant growth characteristics and soil chemical characteristics*. The first international conference and the fourth national conference on environmental and agricultural research in Iran. (In Persian)
20. Lehmann, J., & Joseph, S. (2009). Biochar for environmental management Biochar for Environmental Management. *Science and Technology*. 3rd Ed, London, Earthscan. https://doi.org/10.1111/sum.12162
21. Lehmann, J., Kuzyakov, Y., Pan, G., & Ok, Y.S. (2015). Biochars and the plant-soil interface Biochar amendment improves growth and the essential oil quality and quantity of peppermint (*Mentha piperita* L.) grown under waste water and reduces environmental contamination from waste water disposal. *Journal of Hazardous Materials*, *446*, 1-

12. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130674
22. Najafi Ghairi, M. (2014). The effect of using different biochars on soil characteristics and the ability to absorb some nutrients in a calcareous soil. *Iranian Journal of Soil Research, 29*, 352-358. (In Persian). https://doi.org/10.22092/IJSR.2014.103501
23. Nigussie, A., Endalkachew, K., Mastawesha, M., & Gebermedihin, A. (2012). Effect of biochar application on soil properties and nutrient uptake of Lettuces (*Lactuca sativa*) grown in chromium polluted soils. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 12*, 369–376.
24. Omidbeigi, R. (2000). *Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants*. Astan Ghods Razavi Publications, Mashhad 438pp.
25. Preston, C., & Schmidt, M. (2006). Blackcarbon:a synthesis of current knowledge and uncertainties with special consideration of boreal regions. *Biogeoscience, 3*, 397-420. https://doi.org/10.5194/bg-3-397-2006, 2006
26- Rouhi, A., Taj-Bakhsh, M., Saidi, M., & Nikzad, P. (2018). The allelopathic effect of the aqueous extract of anther leaves on some germination and growth characteristics of wheat, onion, and lettuce seedlings. *Iranian Journal of Field Crop Research, 7*, 464-457. (In Persian). https://doi.org/10.29252/yujs.5.1.71
27. Song, W., & Guo, M. (2012). Quality variations of poultry litter biochar generated at different pyrolysis temperatures. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, *94*, 138-145.
28. Stella Mary, G., Sugumaran, P., & Niveditha, S. (2016). Production, characterization and evaluation of biochar from pod (*Pisum sativum*), leaf (*Brassica oleracea*) and peel (*Citrus sinensis*) wastes. *International Journal of Recycling Organic Waste in Agriculture*, *5*, 43–53. https://doi.org/10.3390/su14073829.
29. Suppadit, T., Phumkokrak, N., & Poungsuk, P. (2012). The effect of using quail litter biochar on soybean (*Glycine max* L.) production. *Chilen Journal of Agricultural Research*, *72*, 244-251. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392012000200013
30. Uzoma, K., Inoue, M., Andry, H., Fujimaki, A., Zahoor, A., & Nishihara, E. (2011). Effect of cow manure biochar on maize productivity under sandy soil condition. *Soil Use and Management, 27*, 205-212.
31. Vaccari, F., Baronti, S., Lugato, E., Genesio, L., Castaldi, F., Fornasier, S., & Miglietta, F. (2011). Biochar as a strategy to sequester carbon and increase yield in durum wheat. *European Journal of Agronomy*, *34*, 231-238. https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2011.00340
32. Yan, S., Zhang, S., & Yan, P. (2022). Effect of biochar application method and amount on the soil quality and maize yield in Mollisols of Northeast China. *Biochar*, *4*, 56. https://doi-org.ezp4.semanlib.cf/10.1007/s42773-022-00180-z.
33. Van Zwieten, L., Kimber, S., & Morris, S. (2010). Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *Plant and Soil*, *327*, 235–246. https://doi.org/10.1007/s11104-009-0050
34. Wen, Z., Chen, Y., Liu, Z., & Meng, J. (2022). Biochar and arbuscular mycorrhizal fungi stimulate rice root growth strategy and soil nutrient availability. *European Journal of Soil Biology*, *113*, 103448.
35. Xu, C., Hosseini-Bai, S., Hao, Y., Rachaputi, RC., Wang, H., Xu, Z., & Wallace, H. (2015). Effect of biochar amendment on yield and photosynthesis of peanut on two types of soils. *Environmental Science and Pollution Research, 22*, 6112-25. https://doi 10.1007/s11356-014-3820-9
36. Yang, H., & Sheng, K. (2012). Characterization of biochar properties affected by different pyrolysis temperatures using visible near infrared spectroscopy. *International Scholary Research Network Spectroscopy*. https://doi.org/10.5402/2012/712837
37. Zhang, X., Qu, J., Li, H., La, S., Tian, Y., & Gao, L. (2020). Biochar addition combined with daily fertigation improves overall soil quality and enhances waterfertilizer productivity of cucumber in alkaline soils of a semi-arid region. *Geoderma*, 363. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.114170